



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
Τμήμα ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

*Μικροοργανισμοί που ενοχοποιούνται για τις εν τω βάθει τραχηλικές
φλεγμονές (DNIs) στην Ελλάδα: ανίχνευση, ταυτοποίηση και ευαισθησία
στα αντιμικροβιακά των αιτιολογικών μικροοργανισμών*

Δέσποινα Μπέκα

Χειρουργός Κεφαλής και Τραχήλου

Λάρισα 2020



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCE
FACULTY OF MEDICINE



MASTER PROGRAM IN
“CLINICAL APPLICATIONS OF MOLECULAR MEDICINE”

MASTER THESIS

**Microorganisms involved in Deep Neck Infection (DNIs) in Greece:
detection, identification, and susceptibility to antimicrobials**

Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα 2020

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Πετεινάκη Ευθυμία (Επιβλέπουσα), Καθηγήτρια Μικροβιολογίας,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Σκουλάκης Χαράλαμπος, Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας, Λάρισα

Σπελέτας Ματθαίος, Καθηγητής Ανοσολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
Λάρισα

Διπλωματική Εργασία υποβληθείσα στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
ως μέρος των απαιτήσεων για την απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης
στις Κλινικές Εφαρμογές Μοριακής Ιατρικής

Master Thesis submitted to the Faculty of Medicine of the University of Thessaly in
partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Clinical Applications of
Molecular Medicine

Λάρισα 2020

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, την κ. Πετεινάκη Ευθυμία για την καθοδήγηση, την κατανόηση και την πολύτιμη βοήθειά της, κατά την διάρκεια της διεκπεραίωσης της διπλωματικής αυτής εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Σκουλάκη Χαράλαμπο και τον κ. Σπελέτα Ματθαίο για τις πολύτιμες γνώσεις που μου πρόσφεραν κατά τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος. Γενικά, ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους τους καθηγητές μου που συνέβαλαν με τη μεθοδικότητα και τη διδασκαλία τους στην επιτυχή ολοκλήρωση των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

ABSTRACT

Background

Purpose of the study was to determine the epidemiology of Deep Neck Infections (DNIs), regarding the detection, the identification and the susceptibility to antimicrobials of causative microorganisms, from October 2010 to October 2018 in Thessaly-Central Greece.

Methods

An analysis of data from a prospective database was conducted on 610 consecutive patients with DNIs treated in the Otolaryngology / Head & Neck Surgery Department of University Hospital of Larissa. Demographics, clinical features and microbiological data were analyzed.

Results

Among the 610 patients (1,9/1 male to female ratio, mean age: 39,24±17,25) with DNIs, 584 had a single space (95,7%), while the remaining had a multi-space (4,3%) DNI. The most common areas affected were the peritonsillar space (84,6%) followed by the submandibular space (6,5%). Clinical samples were obtained in 462 patients, and were tested by culture and by the application of 16S rRNA PCR. One hundred fifty-five samples (55,2%) gave positive cultures, in which *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus* were predominant. The application 16S rRNA PCR revealed that 183 samples (39,6%) were positive for bacterial DNA; 22 of them were culture negative and were positive for anaerobic (*Fusobacterium necrophorum*, *Actinomyces israelii* etc) and for

fastidious microorganisms (*Brucella mellitensis*, *Mycobacterium avium*).

Conclusion

DNIs represent a medical and surgical emergency and evidence-guided empirical treatment with intravenous infusion of antibiotics at the time of diagnosis is mandatory, highlighting the importance of epidemiological studies regarding the causative microorganisms. Although, in our study, the predominant pathogens were *S. pyogenes* and *S. aureus*, the combination of culture and molecular assay revealed that anaerobic bacteria play also a significant role in the pathogenesis of DNIs.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στόχος έρευνας

Προσδιορισμός της επιδημιολογίας των εν τω βάθει τραχηλικών φλεγμονών (DNIs), από τον Οκτώβριο του 2010 έως τον Οκτώβριο του 2018, στη περιοχή της Θεσσαλίας, σχετικά με την ανίχνευση, τον εντοπισμό και την ευαισθησία στα αντιμικροβιακά των αιτιολογικών μικροοργανισμών.

Μεθόδος

Ανάλυση από βάση δεδομένων, πραγματοποιήθηκε σε 610 διαδοχικούς ασθενείς με εν τω βάθει τραχηλικές φλεγμονές DNIs, που νοσηλεύτηκαν στο Τμήμα Ωτολαρυγγολογίας / Χειρουργικής Κεφαλής & Τραχήλου του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας. Αναλύθηκαν δημογραφικά στοιχεία, κλινικά χαρακτηριστικά και μικροβιολογικά δεδομένα.

Αποτελέσματα

Μεταξύ των 610 ασθενών που καταγράφηκαν με εν τω βάθει τραχηλική φλεγμονή, (αναλογία ανδρών/γυναικών : 9/1 με μέση ηλικία: $39,24 \pm 17,25$) 584 ασθενείς παρουσίασαν τραχηλικό απόστημα μιας περιοχής (95,7%), ενώ οι υπόλοιποι είχαν επεκταθεί σε πολλαπλά τραχηλικά διαστήματα (4,3%). Οι πιο κοινές περιοχές που εντοπίστηκε αποστηματική κοιλότητα ήταν το περιαμυγδαλικό διάστημα (84,6%) και

ακολουθεί το υπογνάθιο διάστημα (6,5%).

Κλινικά καλλιέργειες πύου ελήφθησαν σε 462 ασθενείς, και ελέγχθηκαν με την απλή μέθοδο και με την εφαρμογή του 16S rRNA PCR. Εκατόν πενήντα πέντε, 155 δείγματα (55,2%) έδωσαν θετικές καλλιέργειες, στις οποίες ο *Streptococcus pyogenes* και *Staphylococcus aureus* ήταν κυρίαρχοι. Η εφαρμογή 16S rRNA PCR αποκάλυψε ότι σε 183 δείγματα (39,6%) αναπτύχθηκαν οι παρακάτω μικροοργανισμοί: *Fusobacterium necrophorum*, *Actinomyces israelii*, *Brucella* και *Mycobacterium avium*.

Συμπεράσματα

Οι εν τω βάθει τραχηλικές φλεγμονές χρήζουν επείγουσας ιατρικής και χειρουργικής παρέμβασης και άμεσης τεκμηριωμένης εμπειρικής θεραπείας με ενδοφλέβια έγχυση αντιβιοτικών κατά τη στιγμή της διάγνωσης, τονίζοντας τη σημασία των επιδημιολογικών μελετών σχετικά με τους αιτιολογικούς μικροοργανισμούς. Αν και, στη μελέτη μας, τα κυρίαρχα παθογόνα ήταν *S. pyogenes* και *S. aureus*, ο συνδυασμός της καλλιέργειας και της μοριακής δοκιμασίας αποκάλυψε ότι τα αναερόβια βακτήρια παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην παθογένεση των DNIs.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ABSTRACT.....σελ5-6	σελ5-6
2. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....σελ7-8	σελ7-8
3. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....σελ. 10	σελ. 10
4. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΕΝ ΤΩ ΒΑΘΕΙ ΤΡΑΧΗΛΙΚΩΝ ΑΠΟΣΤΗΜΑΤΩΝ...σελ11	σελ11
4.1 ΠΕΡΙΤΟΝΙΕΣ.....σελ11-12	σελ11-12
4.2 ΤΡΑΧΗΛΙΚΑ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ.....σελ12	σελ12
5. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ-ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΑΠΟΣΤΗΜΑΤΟΣ.....σελ13	σελ13
5.1 ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟ ΦΟΡΤΙΟ.....σελ13-14	σελ13-14
6. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....σελ14	σελ14
6.1 ΑΡΧΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ.....σελ14-15	σελ14-15
7. ΒΑΣΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ.....σελ16	σελ16
7.1 ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....σελ16	σελ16
7.2 ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....σελ.17-20	σελ.17-20
8. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ.....σελ20	σελ20
8.1 ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ.....σελ20	σελ20
8.2 ΜΟΡΙΑΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ.....σελ21	σελ21
9. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....σελ21	σελ21
10. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....σελ22-24	σελ22-24
11. ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....σελ25-26	σελ25-26
12. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....σελ27-29	σελ27-29
13. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....σελ30	σελ30
14. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....σελ.31-35	σελ.31-35

3.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι εν τω βάθει τραχηλικές φλεγμονές (DNIs) καθορίζονται από την παρουσία φλεγμονής με ή χωρίς πύον στα εν τω βάθει τραχηλικά διαστήματα και στις τραχηλικές περιτονίες. Οι κατηγορίες των εν τω βάθει τραχηλικών φλεγμονών ανάλογα τα διαστήματα χωρίζονται σε παραφαρυγγικό, περιαμυγδαλικό, παρωτιδικό, μασητήριο, υπογνάθιο, σπλαχνικό, καρωτιδικό, πλαγιοφαρυγγικό, βλεννογόνοφαρυγγικό, οπισθοφαρυγγικό, επικίνδυνο και προσπονδυλικό διάστημα [1,2,3]. Παρά τις διαγνωστικές εξετάσεις που χρησιμοποιούμε για την έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπιση τους (απεικονιστικές CT τραχήλου), οι DNI εξακολουθούν να είναι θανατηφόρες, ιδίως σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς ή ασθενείς με σημαντικές συν νοσηρότητες [4]. Η σοβαρότητα και η έκτασή τους μπορούν να αγνοηθούν, συχνά προσποιούμενες άλλες λοιμώξεις (π.χ. φαρυγγίτιδα, αμυγδαλίτιδα κ.λπ.), οδηγώντας έτσι σε καθυστερημένη διάγνωση [5].

Οι τραχηλοπροσωπικές λοιμώξεις αποτελούν πρόκληση για τον θεράποντα ιατρό, όσον αφορά τη διάγνωση τους. Η πολύπλοκη ανατομία της περιοχής αυτής κάνει τόσο τη διάγνωση όσο και την αντιμετώπισή τους δύσκολη. Ακόμη και σήμερα, οι εν τω βάθει φλεγμονές του τραχήλου παρουσιάζουν αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα που σχετίζεται συνήθως με τη βατότητα του αεραγωγού και την ανεπαρκή αντιμετώπισή τους. Η σύνθετη ανατομία της περιοχής στον τράχηλο είναι ιδιαίτερα περίπλοκη και δυσκολεύει τον ακριβή εντοπισμό των λοιμώξεων για τη χειρουργική τους αντιμετώπισή.

4.ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΕΝ ΤΩ ΒΑΘΕΙ ΤΡΑΧΗΛΙΚΩΝ ΑΠΟΣΤΗΜΑΤΩΝ

Αναφέρονται μόνο τα ανατομικά στοιχεία που είναι άμεσα εμπλεκόμενα με τις τραχηλοπροσωπικές λοιμώξεις και παίζουν καθοριστικό ρόλο στην όδευση και εξέλιξή τους. Αυτά είναι η τραχηλική περιτονία και ο σχηματισμός των τραχηλικών περιτοναϊκών διαστημάτων.

4.1 Περιτονίες

Οι περιτονίες στον τράχηλο είναι δυο: η υποδόρια ή επιπολής και η εν τω βάθει τραχηλική περιτονία. Η επιπολής περιτονία θεωρείται στοιχείο του δέρματος, είναι πολύ λεπτή, περιβάλλει το μυώδες πλάτυσμα στον τράχηλο και περιέχει την έξω και πρόσθια σφαγίτιδα. Η εν τω βάθει τραχηλική περιτονία έχει τρία πέταλα: το επιπολής, το μεσαίο πέταλο (ή σπλαχνικό)και το εν τω βάθει (ή προσπονδυλικό) . Τα περιτοναϊκά πέταλα με την περιβολή των μυών σχηματίζουν τα περιτοναϊκά διαστήματα του σπλαχνικού κρανίου και του πρόσθιου τραχήλου: υπογνάθιο τρίγωνο, καρωτιδικό τρίγωνο, υποκλείδιο, οπίσθιο τραχηλικό τρίγωνο και τον ενιαίο μασητήριο χώρο.

Το επιπολής πέταλο εντοπίζεται κάτωθεν του μυώδους πλατύσματος. Εκτείνεται ως τη βάση του κρανίου προς τα πάνω και έξω και την άνω κροταφική γραμμή στο βρεγματικό οστό προς τα άνω και έξω, ενώ προς τα κάτω μεταπίπτει και συνέχεται με την ενδοθωρακική περιτονία. Το επιπολής πέταλο, στο πρόσωπο περιγράφεται ως κροταφική περιτονία άνωθεν του ζυγωματικού και ως παρωτιδομασητηριακή κάτωθεν αυτού. Στην τραχηλοπροσωπική χώρα, η επιπολής περιτονία περιέχει και περιβάλλει τους περισσότερους μυς (στερνοκλειδομαστοειδή, διγάστορα, μασητήρα, έξω πτερυγοειδή και κροταφίτη), νεύρα και αγγεία, αλλά και τον υπογνάθιο αδένα όπως και την παρωτίδα.

Στο όριο των σκαληνών και προσπονδυλικών μυών η τραχηλική περιτονία σχηματίζει άλλα δύο πέταλα, το μεσαίο ή σπλαχνική περιτονία και την εν τω βάθει ή προσπονδυλική περιτονία. Η μέση τραχηλική περιτονία χωρίζεται σε σπλαχνικό πέταλο, που καλύπτει τον φάρυγγα, τον λάρυγγα, τον οισοφάγο, την τραχεία και τον θυρεοειδή αδένα και σε μυϊκό πέταλο που καλύπτει τους κάτωθεν του υοειδούς μυς. Τα δύο αυτά πέταλα συμμετέχουν και στη δημιουργία του καρωτιδικού ελύτρου.

4.2 Τραχηλοπροσωπικά διαστήματα

Τα τραχηλοπροσωπικά διαστήματα δημιουργούνται μεταξύ των περιτοναϊκών πετάλων της τραχηλικής περιτονίας του τραχήλου όπως περιγράφηκε παραπάνω και είναι: το πρόσθιο τραχηλικό διάστημα, το υπογνάθιο, το υπογλώσσιο, το ενιαίο μασητηριακό διάστημα, το πλαγιοφαρυγγικό, το οπισθοφαρυγγικό, το προσπονδυλικό, το επικίνδυνό διάστημα και ο πρόσθιος σπλαχνικός χώρος (που αφορά την πρόσθια τραχηλική περιοχή στο ύψος του A4). Η εν τω βάθει προσπονδυλική περιτονία καλύπτει τα σώματα των σπονδύλων και τους εν τω βάθει μυς του τραχήλου. Μεγάλη σημασία έχει ο διαχωρισμός της περιτονίας αυτής μπροστά από τα σώματα των σπονδύλων σε δύο άλλα πέταλα, το προσπονδυλικό και το πτερυγοειδές πέταλο. Τα πέταλα αυτά δημιουργούν τα σημαντικά διαστήματα - χώρους, τον προσπονδυλικό χώρο, τον επικίνδυνο χώρο, τον οπισθοφαρυγγικό χώρο και το πλάγιο φαρυγγικό διάστημα τα οποία εμπεριέχουν τον χαλαρό συνδετικός ιστό, αγγεία και νεύρα.

5.ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΑΠΟΣΤΗΜΑΤΟΣ

Το οξύ απόστημα είναι η περιεγραμμένη συλλογή πύου, που δημιουργείται σε μη προϋπάρχουσα κοιλότητα του οργανισμού ως εξέλιξη της οξείας φλεγμονής. Η δυναμικότητα του μικροβιακού φορτίου προκαλεί κεντρική περιοχή ιστικής νέκρωσης που περιβάλλεται από έντονη φλεγμονώδη κυτταρική διήθηση. Η νεκρωτική περιοχή αυτολύεται και δημιουργεί την αποστηματική κοιλότητα. Το περιεχόμενο πύον αποτελείται από ζώντα και νεκρά λευκοκύτταρα, από ζώντα και νεκρά βακτήρια, από εξιδρωματικό υγρό και ινώδες, από κατεστραμμένα κύτταρα των επιτόπιων ιστών και άλλο πλούσιο υλικό αποδόμησης. Το πύον έχει υποκίτρινο χρώμα και είναι συνήθως δύσοσμο. Το πιο χαρακτηριστικό κλινικό σημείο του αποστήματος είναι ο κλυδασμός της περιοχής. Στις περιπτώσεις που η επέκταση προχωρήσει προς τα βαθύτερα τραχηλικά διαστήματα, προς στο αγγειονευρώδες δεμάτιο του τραχήλου από το πλαγιοφαρυγγικό διάστημα, όπου το έσω τοίχωμά του εφάπτεται στο καρωτιδικό έλυτρο, όπως και προς τον μεσαύλιο χώρο μέσω του προσπονδυλικού (ή επικίνδυνου) και οπισθοφαρυγγικού διαστήματος η νοσηρότητα και η θνητότητα αυξάνεται.

5.1 Μικροβιακό φορτίο

Ως μικροβιακό φορτίο στόματος ορίζεται ο συνολικός αριθμός των βακτηρίων που ζουν στη στοματική κοιλότητα που θεωρείται ως ένας ανατομικός χώρος. Το θερμό, υγρό και πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά περιβάλλον του στόματος ευνοεί τον αποικισμό μεγάλου αριθμού μικροβίων. Περισσότερα από 700 είδη μικροοργανισμών με εκπροσώπους κυρίως στρεπτόκοκκους, γαλακτοβάκιλλους, σταφυλόκοκκους και κορυνοβακτήρια, όπως επίσης και έναν μεγάλο αριθμό αυστηρά αναερόβιων μικροοργανισμών, κυρίως βακτηριοειδών.

Η στοματική κοιλότητα ενός ενήλικα αποικίζεται από διάφορες μικροβιακές κοινότητες: *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans* και *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus salivarius* και *Actinomyces naeslundii*, αναερόβια και Gram(+) βακτηρία, Gram(-) βακτηρία. Η γλωρίδα του στόματος έχει δυναμική σύσταση, ευμετάβλητη και αποτελείται συνήθως από σαπροφυτικούς μικροοργανισμούς και ευκαιριακά παθογόνα μικρόβια. Ο μη ελεγχόμενος αριθμός των μικροβίων καθώς και η επάρκεια της φυσικής και χημικής άμυνας του ξενιστή καθιστά τη γλωρίδα ευαίσθητη και μη παθογόνα.

6. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Οι εν τω βάθει τραχηλικές φλεγμονές περιλαμβάνουν συχνότερα πολλαπλούς χώρους, οδηγώντας σε σοβαρές επιπλοκές και φαίνεται να είναι πιο σοβαρές σε ενήλικες εν σύγκριση με τα παιδιά [6]. Επιπλέον, η χρήση αναλγητικών, αντιφλεγμονωδών φαρμάκων και κορτικοστεροειδών μπορεί να καλύψει παρουσιάσεις αμβλύνοντας τις ανοσολογικές αντιδράσεις. Μερικές φορές είναι δύσκολο να εντοπιστεί η προέλευση της λοίμωξης, δεδομένου ότι η κύρια πηγή μόλυνσης μπορεί να προηγείται εβδομάδες, δεδομένου ότι οι κλινικές εκδηλώσεις είναι ποικίλες και εξαρτώνται από τους προσβεβλημένους χώρους [7]. Ακόμη και σήμερα, οι DNIs εξακολουθούν να είναι θανατηφόρες, οδηγώντας σε απειλητικές για τη ζωή επιπλοκές, όπως η απόφραξη του αεραγωγού, η πρόκληση πνευμονίας, περικαρδίτιδας, θρόμβωση σφαγίτιδας ,φλεβική θρόμβωση [8]. Ως εκ τούτου, οι DNIs απαιτούν ταχεία διαγνωστική και θεραπευτική αντιμετώπιση.

6.1 Αρχές θεραπευτικής αντιμετώπισης

Οι αρχές της θεραπείας αποτελούνται από χειρουργική παροχέτευση του τραχηλικού αποστήματος και διαχείριση των επιπλοκών, σε συνδυασμό με την κατάλληλη αντιμικροβιακή θεραπεία. Αν και είναι καλύτερο να αποκτήσουν καλλιέργειες πριν από τη θεραπεία με αντιβιοτικά, οι ασθενείς συχνά αντιμετωπίζονται εμπειρικά, σύμφωνα με τις τοπικές και διεθνείς κατευθυντήριες γραμμές.

Στην Ελλάδα, οι αντιμικροβιακοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία των DNIs περιλαμβάνουν την ενδοφλέβια έγχυση, μόνο ή σε συνδυασμό, πενικιλίνης, αμοξυκυκλίνης συν κλαβουλανικό οξύ, κλινδαμυκίνη και μετρονιδαζόλη. Ωστόσο, η εμφάνιση και η εξάπλωση των πολυ-βακτηρίων τόσο στο νοσοκομειακό περιβάλλον όσο και στην κοινότητα τονίζει την ανάγκη για μια μεγάλη επιδημιολογική έρευνα που επικεντρώνεται στην αιτιολογία και στην ευαισθησία των μικροοργανισμών που είναι οι αιτιολογικοί παράγοντες των DNI.

Αποβλέπει στον περιορισμό και στον έλεγχο της μόλυνσης, με τον αμυντικό μηχανισμό του ξενιστή που είναι ο σπουδαιότερος παράγοντας να στοχεύει στην εξέλιξη της βακτηριακής εισβολής. Η θεραπευτική αντιμετώπιση των λοιμώξεων πρέπει να είναι άμεση, επαρκής και αποτελεσματική και στηρίζεται στο τρίπτυχο αντιμικροβιακή χημειοθεραπεία (κάλυψη του ασθενή από τη μικροβιαμία και τοξιναιμία), σχάση – παροχέτευση (χειρουργική παρέμβαση - εκτόνωσης) και άρση του αιτίου (χειρουργική παρέμβαση). Πιθανή καθυστέρηση επιβαρύνει τόσο την πρόγνωση όσο και τη νοσηρότητα. Η αντιβιοτική θεραπεία από μόνη της δεν είναι αρκετή για την αντιμετώπιση τραχηλικών λοιμώξεων.

Τα στάδια που πρέπει να ακολουθηθούν είναι τα εξής: πρέπει να λαμβάνεται υλικό για καλλιέργεια αερόβιων και αναερόβιων μικροβίων και για τεστ ευαισθησίας. Πριν ακόμη τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής εξέτασης γίνουν γνωστά αρχίζει η εμπειρική χορήγηση αντιβιοτικών φαρμάκων (όπως αναφέραμε και παραπάνω).

7.ΒΑΣΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να προσδιοριστεί, κατά τη διάρκεια μιας οκταετούς περιόδου μελέτης (Οκτώβριος 2010-Οκτώβριος 2018) ο εντοπισμός και η ευαισθησία στα αντιμικροβιακά των μικροοργανισμών που εμπλέκονται σε DNIs στην Κεντρική Ελλάδα, προκειμένου να αποφευχθεί η κλινική ανεπάρκεια και η κατάχρηση αντιβιοτικών φαρμάκων.

7.1 Συλλογή δεδομένων

Ασθενείς με (DNIs) Εν τω βάθει τραχηλική φλεγμονή

Μελέτη δεδομένων που εξήχθησαν από μια μελλοντική βάση δεδομένων πραγματοποιήθηκε σε 610 διαδοχικούς ασθενείς με διάγνωση DNI, που εισήχθησαν από τον Οκτώβριο του 2010 έως τον Οκτώβριο του 2018 στο Τμήμα Ωτολαρυγγολογίας / Χειρουργικής Κεφαλής & Τραχήλου του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, το οποίο είναι το κύριο τριτοβάθμιο νοσοκομείο Θεσσαλίας, Στερεά Ελλάδα. Η Θεσσαλία είναι μια αγροτική περιοχή της Ελλάδας με περίπου 1.000.000 κατοίκους. Η διάγνωση του τραχηλικού αποστήματος, τίθεται η υποψία από το κλινικό ιστορικό, αλλά επιβεβαιώνεται με αξονική τομογραφία (CT) ή χειρουργική επέμβαση για παροχέτευση του πύου από την αποστηματική κοιλότητα.

Συλλέχθηκαν δημογραφικά δεδομένα (όνομα, ηλικία, φύλο, κατοικία, επάγγελμα, ταξίδια, προηγούμενη νοσηλεία) και κλινικές πληροφορίες (υποκείμενη νόσος, αντιβιοτική θεραπεία) των ασθενών. Κλινικά δείγματα ελήφθησαν, μετά την εισαγωγή και πριν από την έναρξη της αντιβιοτικής θεραπείας, με αναρρόφηση βελόνας ή/ και με αποστειρωμένο στείλεό και στάλθηκαν αμέσως στο Μικροβιολογικό Εργαστήριο. Το υλικό διαιρέθηκε σε δύο μέρη, ένα για gram-κ/ες (απλή καλλιέργεια) και ένα για τη μοριακή δοκιμασία.

7.2 Μικροβιολογικές μέθοδοι

Χρώση κατά Gram (Gram stain):

Ονομάζεται μια απλή μέθοδος η οποία κατατάσσει τα είδη των βακτηρίων σε δύο μεγάλες ομάδες, τα «Gram θετικά» και τα «Gram αρνητικά». Στην πρώτη περίπτωση τα βακτήρια διατηρούν το μπλε-ιώδες χρώμα της πρώτης χρώσης, ενώ στη δεύτερη λαμβάνουν ερυθρό χρώμα οφειλόμενο στη δεύτερη χρώση. Η διαφορά αυτή οφείλεται στη χημική σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων και ιδιαίτερα στην ύπαρξη ή μη πεπτιδογλυκάνης. Η μέθοδος οφείλει το όνομά της στον Δανό ερευνητή βακτηριολόγο Χανς Κρίστιαν Γιόαχιμ Γκραμ (Hans Christian Joachim Gram, 1853 - 1938), ο οποίος την επινόησε. Η αρχική τεχνική που δημοσιεύτηκε το 1884 από τον Gram βελτιώθηκε το 1921 από τον Χάκερ (Hucker), παρέχοντας μεγαλύτερη σταθερότητα στη χρώση και καλύτερα αποτελέσματα στην ασφαλή διάκριση.

Η βάση της τεχνικής είναι το κρυσταλλικό ιώδες (crystal violet) ή ιώδες της γεντιανής (gentian violet), κατά IUPAC ονομασία χλωριούχος εξαμεθυλοπαρarosανιλίνη (hexamethyl pararosaniline chloride).

Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να αντικαθίσταται από κυανούν του μεθυλενίου, το οποίο παρέχει εξ ίσου αποτελεσματική χρώση. Η τεχνική αυτή στηρίζεται στην ικανότητα του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων να συγκρατούν το κρυσταλλικό ιώδες κατά την επεξεργασία με διαλύτες. Τα Gram θετικά βακτήρια έχουν τοίχωμα υψηλής περιεκτικότητας σε πεπτιδογλυκάνη και χαμηλότερης σε λιπίδια. Το κυτταρικό τοίχωμα χρώννυται με την επίδραση του κρυσταλλικού ιώδους. Στη συνέχεια προστίθεται ιώδιο ως στερεωτικό, το οποίο σχηματίζει σύμπλοκο με το κρυσταλλικό ιώδες, με αποτέλεσμα τη στερέωση της χρώσης. Στη συνέχεια στο παρασκεύασμα προστίθεται ένας διαλύτης, αιθυλική αλκοόλη, ακετόνη ή μίγμα και των δύο. Ο διαλύτης απομακρύνει τη στιβάδα των λιπιδίων από τα Gram αρνητικά βακτήρια, πράγμα που διευκολύνει τη διάχυση της αρχικής χρώσης στο περιβάλλον. Αντίθετα, ο διαλύτης αφυδατώνει το κυτταρικό τοίχωμα των κατά Gram θετικών βακτηρίων, σφραγίζοντας και τους πόρους του καθώς αυτό συρρικνώνεται, εμποδίζοντας έτσι τη διάχυση της χρωστικής, οπότε τα βακτήρια παραμένουν κεχρωσμένα. Σημαντικό σημείο στην επιτυχία της διαδικασίας είναι ο χρόνος που αφήνεται να επιδράσει ο διαλύτης: Αν είναι ιδιαίτερα παρατεταμένος, ο διαλύτης μπορεί να απομακρύνει τη χρωστική τόσο από τα κατά Gram αρνητικά όσο και από τα κατά Gram θετικά βακτήρια. Μερικά θετικά κατά Gram βακτήρια είναι πιθανό να χάσουν σχετικά εύκολα τη χρώση τους και στο παρασκεύασμα τελικά να εμφανίζεται μια μίξη θετικών και αρνητικών βακτηρίων. Αυτού του τύπου τα βακτήρια χαρακτηρίζονται ως κατά Gram μεταβλητά. Τέλος, στο παρασκεύασμα προστίθεται νέα χρωστική, συνήθως φουξίνη (fuchsin) ώστε να χρωματιστούν τα (αποχρωματισμένα) αρνητικά κατά Gram βακτήρια και να είναι δυνατή η παρατήρησή τους.

Εν συνεχεία χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση των μικροοργανισμών που απομονώθηκαν από τις εν τω βάθει τραχηλικές φλεγμονές είναι βάση ταξινόμησης βακτηρίων με την υπομονάδα 16S rRNA. Η υπομονάδα 16S rRNA των βακτηρίων έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς στο παρελθόν και εξακολουθεί να χρησιμοποιείται για την ταξινόμηση των βακτηρίων. Το 16S rRNA που αποτελείται από 1500 περίπου βάσεις νουκλεοτιδίων, βρίσκεται σε όλα τα βακτήρια. Η βασική του λειτουργία είναι η έναρξη και η επιμήκυνση της πρωτεϊνσύνθεσης, η οποία δεν έχει αλλάξει και έτσι, τυχαίες αλλαγές αποτελούν δείκτη του χρόνου εξελίξεως των βακτηρίων. Παρ' όλη την εν γένει υψηλή ομολογία του 16S rRNA μεταξύ των βακτηριακών ειδών, το 16S rRNA περιλαμβάνει στην αλληλουχία του εννέα μεταβλητές περιοχές που είναι διακριτές μεταξύ των διαφόρων μικροβίων και οι οποίες ως εκ τούτου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για αναγνώριση και διάκριση μεταξύ των βακτηρίων. Πριν την εισαγωγή των μεθόδων μεταγονιδιοματικής, η ταυτοποίηση των μικροβίων με τη μέθοδο αυτή περιελάμβανε πολλαπλασιασμό του γονιδίου 16S rRNA με PCR, κλωνοποίηση του αμπλικονίου σε πλασμίδιο και προσδιορισμό της αλληλουχίας του με την κλασική μέθοδο κατά Sanger. Για την ταυτοποίηση του βακτηρίου ακολουθούσε σύγκριση, με τη βοήθεια ειδικών λογισμικών προγραμμάτων, των rDNA αλληλουχιών του 16S rRNA με αλληλουχίες αναφοράς από βάσεις δεδομένων, όπως η GenBank¹⁴ ή η Ribosomal Database Project ¹⁵ που περιλαμβάνουν νουκλεοτιδικές ακολουθίες εκατοντάδων χιλιάδων οργανισμών. Για την ταυτοποίηση και τυποποίηση βακτηρίων σε κλινικό επίπεδο, είναι διαθέσιμη αυτοματοποιημένη εμπορική μέθοδος που βασίζεται σε ανάλυση του 16S rRNA (MicroSeq® 500 16S rDNA Bacterial Identification Kit –της εταιρείας Applied Biosystems).

Αν και με τη μέθοδο αυτή μπορούν να προσδιορισθούν οι επικρατούντες μικροοργανισμοί σε κάποια μικροχλωρίδα και να αναγνωρισθούν ακόμη και μικροοργανισμοί που δεν μπορούν να απομονωθούν με καλλιέργεια.

8.ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

8.1.Συμβατική μέθοδος: Gram- χρώση, καλλιέργεια, ταυτοποίηση και αντιμικροβιακή δοκιμή ευαισθησίας

Τα δείγματα, μετά από δοκιμή με gram- χρώσεις, καλλιεργήθηκαν σε δύο πλάκες αγάρ αίματος (μία αερόβια και μία αναερόβια), σε αγάρ Mc Conkey και σε αγάρ Sabouraud για 5 ημέρες σε 37°C. Ο προσδιορισμός των μικροοργανισμών στο επίπεδο του είδους και οι δοκιμές ευαισθησίας πραγματοποιήθηκαν από το VITEK[®]2 αυτοματοποιημένου συστήματος (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Γαλλία). Οι MIC ερμηνεύθηκαν σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Επιτροπή Για τον Έλεγχο της Ευαισθησίας στα Αντιμικροβιακά (EUCAST) (http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/).

8.2. Μοριακή μέθοδος: 16S rRNA PCR ακολουθούμενος από την ανάλυση ακολουθίας

Σε μια προσπάθεια να προσδιοριστεί γρήγορα ο αιτιολογικός παράγοντας των DNIs, η εφαρμογή του 16S rRNA PCR πραγματοποιήθηκε απευθείας στα δείγματα όπως αναφέρθηκε προηγουμένως [9]. Εν συντομία, το DNA εξήχθη χρησιμοποιώντας ένα κιτ QIAmp DNA Mini (QIAGEN, Hilden, Γερμανία), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Στη συνέχεια, το γονίδιο *16S rRNA* ενισχύθηκε χρησιμοποιώντας εκκινητές 5'-AGAGTTTCATCATGCTCA-3'(εμπρός, που βρίσκονται στις θέσεις 8 έως 27) και 5'-ACGGGACTGCTGCTGGCTCCAC-3' (αντίστροφη, θέσεις 531 έως 514 E. coli). Στην περίπτωση που αποκτήθηκε μια ζώνη περίπου 520 bp, οι αμφίτονο PCR ακολουθούσαν και προς τις δύο κατευθύνσεις σε έναν γενετικό αναλυτή ABI 3130 και συγκρίθηκαν με εκείνες που υποβλήθηκαν στην GenBank και την EMBL, χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο BLAST.

9.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλα τα περιγραφικά δεδομένα αναφέρθηκαν σε ποσοστά και το Sperman's Rho χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση πιθανών συσχετίσεων. Η ανάλυση δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό λογισμικό SPSS 20 (IBM, Chicago, IL, USA) και οι τιμές του $p < 0,05$ θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα.

10. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μεταξύ των 610 ασθενών με DNIs, 399 ήταν άνδρες και 211 γυναίκες (αναλογία ανδρών προς γυναίκες) με μέση ηλικία \pm SD 39,24 \pm 17,25 ετών. 564 ήταν ενήλικες (\geq 18 ετών) και 46 παιδιά (<18 ετών). Σε ενήλικες παρατηρήθηκε συμμετοχή μίας αποστηματικής κοιλότητας σε 539 ασθενείς (95,6%) και πάνω από μία κοιλότητα(τραχηλικό διάστημα) συμμετοχή-φλεγμονή σε 25 ασθενείς (4,4%). Το περιामυγδαλικό απόστημα ήταν ο πιο κοινός χώρος που εμπλέκεται (88,3%) και ακολουθεί ο υπογνάθιος χώρος (7,2%). Στα παιδιά παρατηρήθηκε συμμετοχή σε 45 ασθενείς (97,8%) φλεγμονή ενός τραχηλικού διαστήματος και συμμετοχή σε έναν ασθενή (2,2%) φλεγμονή σε περισσότερα από ένα τραχηλικά διαστήματα. Το περιामυγδαλικό απόστημα ήταν ο πιο κοινός χώρος που εμπλέκεται (86,9%) ακολουθεί ο Παραφαρυγγικός χώρος (6,5%) (Πίνακας 1).

Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν είτε σε αναρρόφηση βελόνας είτε σε χειρουργική παροχέτευση της αποστηματικής κοιλότητας. Καλλιέργειες ελήφθησαν πριν από την έναρξη της εμπειρικής αντιμικροβιακής θεραπείας. Σε ορισμένες περιπτώσεις η θεραπεία τροποποιήθηκε σωστά μετά τα αποτελέσματα των δοκιμών ευαισθησίας. Δείγματα μικροβιολογικής ανάλυσης ελήφθησαν σε 462 από τους 610 ασθενείς (428 ενήλικες και 34 παιδιά), ενώ το 45,6% (210/462) από αυτούς είχαν λάβει αντιβιοτικά πριν από την εισαγωγή (46,3% των ενηλίκων και 35,3% των παιδιών). Τα πιο συχνά αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν πριν από την εισαγωγή ήταν αμοξικιλίνη με κλαβουλανικό οξύ και κλαριθρομυκίνη. Στην εμπειρική θεραπεία περιλαμβάνεται ενδοφλέβια έγχυση αμοξικιλίνης με κλαβουλανικό οξύ ή κλινδαμικίνης σε συνδυασμό με μετρονιδαζόλη.

Από τα 462 κλινικά δείγματα, το 55,2% (255/462) έδωσε θετικά δείγματα καλλιέργειών, ενώ σε 3 κλινικά δείγματα απομονώθηκαν δύο διαφορετικά βακτηριακά είδη.(βλέπε πίνακα 2,3). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της λήψης αντιβιοτικών πριν από τη λήψη καλλιέργειας και τη θετικότητα ή την αρνητικότητα των αποτελεσμάτων των καλλιέργειών (Sperman's Rho: -0,008; P: 0,865 > 0,05). Από τα απομονωμένα είδη βακτηρίων το 91,9% (237/258) ήταν αερόβια και το 8,1% (21/258) αναερόβια. Τα πιο συνηθισμένα αερόβια βακτήρια ήταν ο *Streptococcus pyogenes* (45,3%) και *Staphylococcus aureus* (26,7%). Τα πιο κοινά αναερόβια βακτήρια ήταν η *Prevotella melaninogenica* (2,7%) και *Fusobacterium* (2,7%) . Δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων ηλικίας και πολιτισμού (Sperman's Rho: -0,087; P: 0,062 > 0,05).

Όσον αφορά την ευαισθησία των αερόβιων Gram-θετικών κόκκων σε β-λακταμικά, όλοι οι στρεπτόκοκκοι, όπως αναμενόταν, ήταν ευαίσθητοι στην πενικιλίνη. Μεταξύ των σταφυλόκοκκων, το 90% των απομονωθέντων στελεχών του *S. aureus* ήταν ανθεκτικά στην πενικιλίνη και το 3,9% ήταν ανθεκτικά στη μεθικιλίνη (MRSA). Υψηλό ποσοστό αντοχής στη μακρολίδη παρατηρήθηκε τόσο στην απομόνωση *S. pyogenes* όσο και *S.aureus* (17% και 19% αντίστοιχα). Αερόβια Gram-αρνητικά βακτήρια εξέφρασαν έναν φαινότυπο άγριου τύπου χωρίς πρόσθετους επίκτητους μηχανισμούς αντίστασης. Τέλος, όλα τα αναερόβιων βακτηρίων που απομονώθηκαν ήταν ευαίσθητα στη κλινδαμικίνη και στη μετρονιδαζόλη.

Η εφαρμογή του 16S rRNA PCR απευθείας στα δείγματα αποκάλυψε την παρουσία βακτηριακού DNA σε 183 από 462 δείγματα (39,6%).

Εκατόν πενήντα από αυτούς (82%) έδωσε θετικές καλλιέργειες· η ταυτοποίηση με ανάλυση αλληλουχίας ήταν σύμφωνη με εκείνη που προέκυψε με συμβατικές μεθόδους. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν με αυτή τη μοριακή μέθοδο ήταν διαθέσιμα εντός δύο ημερών από τη δειγματοληψία. Επιπλέον, μεταξύ των τριάντα τριών δειγμάτων (18%), που ήταν PCR θετικά αλλά αρνητική καλλιέργεια, 22 (12%) διαπιστώθηκε ότι είναι θετικές για το DNA των μικροοργανισμών, όπως οι Ακτινομύκητες (11 από 22), *Fusobacterium* (8 από 22), *Brucella* (2 από 22) και *Mycobacterium* (1 από 22). Όσον αφορά τα υπόλοιπα 11 δείγματα (6%), η ανάλυση αλληλουχίας απέτυχε να εντοπίσει τους σχετικούς μικροοργανισμούς, δεδομένου ότι προέκυψε ένα πολυμικροβιακό γενετικό μοτίβο. Κανένας από αυτούς τους τριάντα τρεις ασθενείς δεν είχε λάβει αντιμικροβιακή θεραπεία πριν από την εισαγωγή.

11. ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Table 1: Demographics and spaces involved of the 610 patients with deep neck infection.

All patients (n = 610)		
	male/female: 399/211	mean age ± SD: 39,24 ± 17,25
Space involved	Single space (n = 584)	Multi-space (n = 26)
- Peritonsillar-PMS*	516	5
- Submandibular	40	17
- Para-pharyngeal	10	20
- Retropharyngeal	7	6
- Ludwig's angina	5	
- Masticator	3	6
- Parotid	3	
- Visceral		6
- Danger		5
- Carotid		1
Adults (n = 564)		
	male/female: 378/186	mean age ± SD: 41,39 ± 16,06
Space involved	Single space (n = 539)	Multi-space (n = 25)
- Peritonsillar-PMS	476	4
- Submandibular	39	16
- Para-pharyngeal	7	20

- Retropharyngeal	6	6
- Ludwig's angina	5	
- Masticator	3	6
- Parotid	3	
- Visceral		6
- Danger		5
- Carotid		1
Children (n = 46) male/female: 21/25 mean age \pm SD: 12,8 \pm 4,68		
Space involved	Single space (n = 45)	Multi-space (n = 1)
- Peritonsillar-PMS	40	1
- Para-pharyngeal	3	1
- Retropharyngeal	1	
- Submandibular	1	

*PMS: pharyngeal mucosal space

11.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι εν τω βάθει τραχηλικές φλεγμονές (DNIs) είναι δυνητικά θανατηφόρα και απαιτούν μια επιθετική διαγνωστική και θεραπευτική διαχείριση. Στην προ-αντιβιοτική εποχή, η μόλυνση από φάρυγγα/αμυγδαλές ήταν υπεύθυνη για το 70% των εν τω βάθει τραχηλικών φλεγμονών [10,11]. Συνήθως, εν τω βάθει τραχηλικές φλεγμονές εμφανίζονται μετά από προηγούμενες ανεξέλεγκτες λοιμώξεις, όπως αμυγδαλίτιδα, οδοντικές λοιμώξεις, χειρουργική επέμβαση, τραύμα κεφαλής και τραχήλου ή λεμφαδενίτιδα μετά από λοίμωξη ανώτερου αναπνευστικού συστήματος [12, 13], ενώ είναι μερικές φορές δύσκολο να βρεθεί η προέλευση της DNI, επειδή η κύρια πηγή της φλεγμονής μπορεί να προηγείται από μέρες ή εβδομάδες [7].

Η διαχείριση των DNIs περιλαμβάνει χειρουργική παροχέτευση της αποστηματικής κοιλότητας ή παροχέτευση δια λεπτής βελόνας του αποστήματος με άμεση έναρξη ενδοφλέβιων αντιβιοτικών εάν είναι απαραίτητο [14,15]. Τα DNIs απαιτούν έγκαιρη θεραπεία με IV αντιβιοτικά κατά τη στιγμή της διάγνωσης, λόγω της ταχέως προοδευτικής φύσης αυτών των λοιμώξεων. Η αντιβιοτική θεραπεία θα πρέπει να ξεκινά εμπειρικά, με βάση την τοπική επιδημιολογία, ιδανικά πριν από τη διάθεση των αποτελεσμάτων του πολιτισμού και της νοσηρότητας [1]. , ιδανικά πριν την κάλυψη-χορήγηση αντιβιοτικής θεραπείας . Πολλές βιβλιογραφικές αναφορές συστήνουν ως βέλτιστη εμπειρική κάλυψη, μια πενικιλίνη (όπως αμοξικιλίνη συν κλαβουλανικό οξύ), ή μια λακτάμη ανθεκτική στα αντιβιοτικά (όπως cefuroxime, meropenem ή imipenem) σε συνδυασμό με ένα φάρμακο, το οποίο είναι εξαιρετικά αποτελεσματικό κατά των περισσότερων αναερόβιων (μια μετρονιδαζόλη ή κλινδαμυκίνη) [16,17].

Αυτά τονίζουν τη σημασία των επιδημιολογικών μελετών στη μικροβιολογία DNIs, δεδομένου ότι οι μελέτες αυτές βοηθούν στον προσδιορισμό της κατάλληλης εμπειρικής θεραπείας σε κάθε γεωγραφική περιοχή. Στην Ελλάδα, εξ όσων γνωρίζουμε, αυτή είναι η πρώτη μελέτη που επικεντρώνεται στην αιτιολογία των εν τω βάθει τραχηλικών φλεγμονών-DNIs.

Η μικροβιολογία των εν τω βάθει τραχηλικών φλεγμονών DNI χαρακτηρίζεται από πολύ μικρό φάσμα μικροβίων συμπεριλαμβανομένων των αερόβιων και αναερόβιων βακτηρίων. Οι παράγοντες που βρίσκονται συνήθως είναι βακτήρια που αποτελούν μέρος της φαρυγγικής χλωρίδας, όπως *S. pyogenes*, *S. aureus*, *Streptococcus group C*, *Streptococcus anginosus*, *Fusobacterium sp.*, *Prevotella sp.*, και *Klebsiella pneumoniae*.

Προηγούμενες μελέτες έχουν αποδείξει ότι ο *S. pyogenes*, *S. aureus*, *Streptococcus viridans* και *Haemophilus* είναι τα πιο κοινά βακτηριακά είδη [18,19]. Ωστόσο, ο Adonica et al έχουν αναφέρει ότι τα πιο συχνά παθογόνα σε βακτηριακές καλλιέργειες ήταν Gram-αρνητικά βακτηρίδια όπως *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* και *K. pneumoniae* [20].

Στη σειρά μας, οι καλλιέργειες έχουν λάβει από 462 από τους 610 ασθενείς, ενώ 255 από αυτούς ήταν θετικές για έναν μικροοργανισμό τουλάχιστον. Τα πιο κοινά βακτήρια που απομονώθηκαν ήταν *S. pyogenes* και *S. aureus* σε ενήλικες και σε παιδιά, καθώς και οι περισσότερες μελέτες αναφέρουν χαμηλότερο επιπολασμό της DNI σε παιδιά σε σύγκριση με τους ενήλικες [3,21,22].

Πιθανώς αυτό μπορεί να αιτιολογηθεί και από κακή χρήση αντιβιοτικών, ειδικά στα κρυολογήματα και άλλες ιογενείς λοιμώξεις, οι οποίες είναι λιγότερες σε παιδιά από ό, τι σε ενήλικες [23,24]. Στη μελέτη μας τα παιδιά αποτελούσαν το 5,6% του συνόλου των ασθενών. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η επίδραση της ηλικίας στην κατανομή των πιο κοινών βακτηρίων που προκαλούν DNI δεν είναι σαφής. Η ηλικία ήταν ένας σημαντικός παράγοντας που επηρέασε τη βακτηριολογία του DNI σε μια μελέτη της Coticchia et al [25]. Από την άλλη πλευρά, άλλοι συγγραφείς δεν βρήκαν σημαντικές διαφορές στη βακτηριολογία της DNI μεταξύ διαφόρων ηλικιακών ομάδων. Στη μελέτη μας, η συχνότητα εμφάνισης αναερόβιων βακτηρίων ήταν υψηλότερη στους ενήλικες σε σύγκριση με τα παιδιά. Ωστόσο, δεν έχουμε παρατηρήσει καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ βακτηριολογίας και ηλικίας.

Τελευταίο εύρημα ήταν ότι το 16S rRNA PCR εντόπισε βακτηριακό DNA σε είκοσι δύο δείγματα που έδωσαν αρνητικά αποτελέσματα καλλιέργειας δεκαεννέα από αυτά ήταν θετικά για αναερόβια βακτήρια. Πιθανώς, αυτό θα μπορούσε να εξηγηθεί από το γεγονός ότι αυτά τα αναερόβια βακτήρια όπως το *F. necrophorum* απαιτεί αυστηρά αναερόβια κριτήρια ανάπτυξης, τονίζοντας τη σημασία της δειγματοληψίας. Επιπλέον, το 16S rRNA PCR προσδιόρισε σωστά τους αιτιολογικούς μικροοργανισμούς που απομονώθηκαν από 150 δείγματα, ενώ τα αποτελέσματα που ελήφθησαν με τη μοριακή μέθοδο ήταν διαθέσιμα νωρίτερα από αυτά που ελήφθησαν από τις απλές καλλιέργειες (μέσος χρόνος δύο έναντι πέντε ημερών).

Έτσι, η εφαρμογή του 16S rRNA PCR σε συνδυασμό με τη συμβατική καλλιέργεια φαίνεται να είναι απαραίτητη, ειδικά για την ανίχνευση των μικροοργανισμών.

12.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Εν κατακλείδι, οι εν τω βάθει τραχηλικές φλεγμονές αντιπροσωπεύουν μια ιατρική και χειρουργική έκτακτη ανάγκη, εξακολουθούν να είναι συχνές και μπορούν να αναπτύξουν σοβαρές επιπλοκές. Η εμπειρική θεραπεία με «τεκμηριωμένη» αντιβιοτική αγωγή κατά τη στιγμή της διάγνωσης είναι υποχρεωτική, τονίζοντας τη σημασία των επιδημιολογικών μελετών στη μικροβιολογία DNIs. Αν και, στη μελέτη μας, τα κύρια παθογόνα ήταν *S. pyogenes* και *S. aureus*, ο συνδυασμός των συμβατικών και μοριακών δοκιμών αποκάλυψε ότι τα αναερόβια βακτήρια παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην παθογένεση των DNIs. Έτσι, μέχρι να είναι διαθέσιμα τα αποτελέσματα των εξετάσεων καλλιέργειας και ευαισθησίας, προτείνουμε ενδοφλέβια έγχυση αμοξικιλίνης-κλαβουλανικού οξέος σε συνδυασμό με μετρονιδαζόλη ως θεραπεία πρώτης γραμμής.

Συντομογραφίες

DNIs: Βαθιές λοιμώξεις του λαιμού

EUCAST: Ευρωπαϊκή Επιτροπή για τον έλεγχο της ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά

PCR: Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

Δηλώσεις

Επιβεβαίωση

Καμία δήλωση

Διαθεσιμότητα δεδομένων και υλικών

Τα σύνολα δεδομένων είναι διαθέσιμα κατόπιν αιτήματος στον αντίστοιχο συντάκτη.

Συνεισφορές συγγραφέων

Η PB και η VL σχεδίασαν τη μελέτη και συνέλεξαν τα δεδομένα. Το SX πραγματοποίησε τις μικροβιολογικές εξετάσεις. VL και SD ανέλυσαν τα δεδομένα. VL, EP και CS γράφουν το χειρόγραφο. AK αναθεώρησε το χειρόγραφο. Όλοι οι συγγραφείς διαβάζουν και εγκρίνουν το τελικό χειρόγραφο.

Έγκριση δεοντολογίας και συγκατάθεση για συμμετοχή

Το πρωτόκολλο της έρευνας εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Γενικού Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας (Αριθμός Ερευνητικού Κώδικα: 388). Η έρευνα αυτή δεν περιλαμβάνει ανθρώπινα υποκείμενα, ανθρώπινο υλικό (ιστός), ή ανθρώπινα δεδομένα. Τα κλινικά απομονωθέντα στελέχη και τα δεδομένα συλλέχθηκαν ως μέρος της συνήθους διάγνωσης εργαστηρίου μικροβιολογίας χωρίς αναγνωρίσιμες πληροφορίες των ασθενών.

Συγκατάθεση για δημοσίευση

Δεν ισχύει.

Ανταγωνιστικά συμφέροντα

Όλοι οι συγγραφείς: κανένας να δηλώσει.

Συγκρούσεις συμφερόντων

Οι συγγραφείς δεν δηλώνουν συγκρούσεις συμφερόντων.

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Christian JM, Goddard AC, Gillespie MB. Deep Neck and Odontogenic Infections, in Cummings Otolaryngology - Head And Neck Surgery, 6th Edition. 2015; 164-175
2. Aygun N, Zinreich SJ. Overview of Diagnostic Imaging of the Head and Neck, in Cummings Otolaryngology - Head and Neck Surgery, 6th Edition. 2015; 104-153.
3. Santos Gorjón P, Blanco Pérez P, Morales Martín AC, Del Pozo de Dios JC, Estévez Alonso S, Calle de la Cabanillas MI. Deep neck infection. Review of 286 cases. Acta Otorrinolaringol Esp. 2012; 63:31–41.
4. Sakagushi M, Sato S, Ishiyama T, Katsuno S, Tagushi K. Characterization and management of deep neck infection. J Oral Maxillofac Surg. 1997; 26: 131-4.
5. Raffaldi I, Le Serre D, Garazzino S, Scolfaro C, Bertaina C, Mignone F, et al. Diagnosis and management of deep neck infections in children: the experience of an Italian paediatric centre. J Infect Chemother. 2015; 21: 110-3.
6. Yang W, Hu L, Wang Z, Nie G, Li X, Lin D, et al. Deep neck infection: a review of 130 cases in Southern China. Medicine (Baltimore). 2015; 94: e994.
7. Abdel-Haq NM, Harahsheh A, Asmar BL. Retropharyngeal abscess in children: the emerging role of group A beta hemolytic streptococcus. South Med J. 2006; 99: 927-31.
8. Lee JK, Kim HD, Lim SC. Predisposing factors of complicated deep neck infection: an analysis of 158 cases. Yonsei Med J. 2007; 48: 55-62.
9. Malli E, Gatselis NK, Dalekos GN, Petinaki E. Combination of vial culture and broad-range PCR for the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis: experience in a Greek tertiary care hospital. New Microbes New Infect. 2018; 18: 28:1-5.

10. Har-El G, Aroesty JH, Shaha A, Lucent FE. Changing trends in deep neck abscess. *Oral Med Oral Pathol.* 1994; 77: 446-50.
11. Lee YQ, Kanagalingam J. Deep neck abscesses: the Singapore experience. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2011; 268: 609-14.
12. Sakagushi M, Sato S, Ishiyama T, Katsuno S, Tagushi K. Characterization and management of deep neck infection. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 26: 131-4.
13. Fujiyoshi T, Yoshida M, Udaka T, Tanabe T, Makishima K. Clinical relevance of the *Streptococcus milleri* group in head and neck infections. *Nihon Jibiinkoka Gakkai Kaiho.* 2002; 105:14-21.
14. Sethi DS, Stanley RE. Parapharyngeal abscesses. *J Laryngol Otol.* 1991; 105:1025-30.
15. Miller WD, Furst IM, Sandor GKB, Keller MA. A prospective, blinded comparison of clinical examination and computed tomography in deep neck infections. *Laryngoscope.* 1999; 109: 1873-9.
16. Vieira F, Allen SM, Stocks RSM, Thompson JW. Deep neck infection. *Otolaryngol Clin N Am.* 2008; 41: 459-83.
17. Parhiscar A, Har-El G. Deep neck abscess: a retrospective review of 210 cases. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2001; 110: 1051-4.
18. Sennes LU, Imamura R, Júnior FVA, Frizzarini R, Tsuji DH. Deep neck infections: prospective study of 57 patients. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2002 68: 388-93.
19. Martínez Pascual P, Pinacho Martínez P, Friedlander E, Martín Oviedo C, Scola Yurrita B. Peritonsillar and deep neck infections: a review of 330 cases *Brazilian Journal of Otolaryngology*, 2018, 84: 305-310.

20. Adoviča A, Veidere L, Ronis M, Sumeraga G. Deep neck infections: review of 263 cases. *Otolaryngol Pol.* 2017;71 :37-42.
21. Brito TP, Hazboun IM, Fernandes FL, Bento LR, Zappelini CEM, Chone CT, et al. Deep neck abscesses: study of 101 cases. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2017; 83 :341-348
22. Huang CM, Huang FL, Chien YL, Chen PY. Deep neck infections in children: *Journal of Microbiol Immunol Infect* 2017; 50:627-633.
23. Monto AS. Studies of the community and family: acute respiratory illness and infection. *Epidemiol Rev.* 1994; 16: 351-73.
24. Heikkinen T, Jarvinen A. The common cold. *Lancet.* 2003; 361: 51-9.
25. Coticchia JM, Getnick GS, Yun RD, Arnold JE. Age-, site-, and time-specific differences in pediatric deep neck abscesses. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004; 130: 201-7.

